

**ENSAIO ECOTOXICOLÓGICO COM O FLUIDO RISERLESS  
PAD MUD – 10,3 LB/GAL UTILIZANDO *Lytechinus variegatus*  
(ECHINODERMATA-ECHINOIDEA)**



Av. Carlos Chagas Filho, 791  
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4  
Cidade Universitária // Ilha do Fundão  
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ  
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466  
Email: [labtox@labtox.com.br](mailto:labtox@labtox.com.br)  
<http://www.labtox.com.br>

SOLICITANTE:

CHEVRON BRASIL PETRÓLEO LTDA  
Av. República do Chile, 230 – 18º - Centro  
Rio de Janeiro - RJ - CEP: 20.031-170  
Tel: (21) 2510-5884 / 2510-5909

Técnico solicitante: Fernanda N. Othero  
e-mail: [fernanda.othero@chevron.com](mailto:fernanda.othero@chevron.com)

EXECUTADO POR:

LABTOX – Laboratório de Análise Ambiental Ltda  
Av. Carlos Chagas Filho, 791 - Pólo Bio-Rio  
Cidade Universitária – Ilha do Fundão CEP: 21.941-904  
Tel: (21) 3867-5651 / 3525-2466 / 3525-2442  
e-mail: [labtox@labtox.com.br](mailto:labtox@labtox.com.br)

Laudos 0576 LVC – Rev 00

Rio de Janeiro  
Setembro/2013

## LAUDO DE TOXICIDADE

## DADOS DO ENSAIO

Avaliação solicitada: Ensaio embriolarval

Organismo-teste: *Lytechinus variegatus*

Tipo de ensaio: Crônico de curta duração      Tempo de exposição: 24 a 28 horas

Resposta do ensaio: Efeito no desenvolvimento embriolarval (retardamento e/ou ocorrência de anomalias no desenvolvimento, até larva pluteus)

## VALIDADE DO ENSAIO

Desenvolvimento embriolarval no controle:  $\geq 80\%$ 

Sensibilidade do lote de organismos utilizados, à substância de referência, dentro da faixa estabelecida pelo Labtox

Substância de referência: DSS ( Dodecil sulfato de sódio)

Faixa de sensibilidade:  $CI_{50}(I)$ : 1,46 - 2,51 mg.L<sup>-1</sup> (07/01/2013)

## DADOS DA AMOSTRA

Identificação da amostra pelo solicitante: Fluido RISERLESS PAD MUD

Peso: 10,3 lb/gal

Localização: Brasco

Data: 26/08/2013

Código de entrada no Labtox: L057613      Data de entrada: 29/08/2013

Data de início do ensaio: 09/09/2013      Data de término: 10/09/2013

Composição da amostra:

| PRODUTOS      | DESCRIÇÃO/ FUNÇÃO                         | CONCENTRAÇÃO |                   |
|---------------|---|--------------|-------------------|
|               |   | LPB          | kg/m <sup>3</sup> |
| ÁGUA          | -   | 321,13       | 916,22            |
| BENTONITA     | Argila -Viscosificante                    | 15,00        | 42,80             |
| SODA CÁUSTICA | Hidróxido de Sódio -<br>Controlador de pH | 0,10         | 0,29              |
| BARITA        | Sulfato de Bario - Agente<br>Adensante    | 96,12        | 274,24            |
| DUOVIS        | Goma Xantana/ Viscosificante              | 0,25         | 0,71              |



Av. Carlos Chagas Filho, 791  
 Pólo Bio-Rio // Laboratório 4  
 Cidade Universitária // Ilha do Fundão  
 CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ  
 55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466  
 Email: labtox@labtox.com.br  
 http://www.labtox.com.br



Av. Carlos Chagas Filho, 791  
 Pólo Bio-Rio // Laboratório 4  
 Cidade Universitária // Ilha do Fundão  
 CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ  
 55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466  
 Email: labtox@labtox.com.br  
 http://www.labtox.com.br

| RESULTADOS  |
|---|
| <b>CENO(I)</b> 250.000 ppm da FPS <b>CEO(I)</b> 500.000 ppm da FPS<br><b>VC(I)</b> 353.553 ppm da FPS |
| Controle: 87,5 % de pluteus   |
| Ensaio com DSS (09/09/2013): 2,03 mg.L <sup>-1</sup> (IC: 1,94 – 2,12 mg.L <sup>-1</sup> )            |

FPS: Fração Particulada Suspensa      IC: Intervalo de confiança

## 1 – OBJETIVO

Este ensaio teve como objetivo determinar a toxicidade crônica de curta duração da amostra, sobre os embriões do ouriço-do-mar *Lytechinus variegatus*.

## 2 – METODOLOGIA

A determinação da toxicidade crônica em relação à *L. variegatus* seguiu a metodologia descrita em NBR 15.350 (ABNT, 2012). O ensaio consiste na exposição dos ovos a diferentes diluições da FPS, avaliando-se a solução-teste que causa retardamento no desenvolvimento embriolarval e/ou anomalias nos organismos expostos, nas condições de ensaio.

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

O valor de CENO(I) (maior concentração nominal da amostra no início do ensaio que não causa efeito significativamente diferente do controle) e CEO(I) (menor concentração nominal da amostra no início do ensaio que causa efeito significativamente diferente do controle) foi obtido através do teste de Williams utilizando-se o programa estatístico TOXSTAT versão 3.3 (Gulley *et al.*, 1991).

Após a obtenção destes valores, foi calculado o VC(I) (valor crônico inicial), que representa a média geométrica de CENO(I) e CEO(I).

## PREPARO DA AMOSTRA

A amostra foi mantida em temperatura inferior a 10° C até a realização do ensaio. O preparo da fração particulada suspensa (FPS), na proporção de 1:9, com água do mar, foi realizado com base na metodologia descrita em NBR 15.469 (ABNT, 2007). A partir da FPS (solução-estoque de 1.000.000 ppm), foram preparadas as seguintes soluções-teste: 62.500; 125.000; 250.000; 500.000 e 1.000.000 ppm da FPS.



Av. Carlos Chagas Filho, 791  
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4  
Cidade Universitária // Ilha do Fundão  
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ  
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466  
Email: labtox@labtox.com.br  
http://www.labtox.com.br

## RESUMO DAS CONDIÇÕES DE ENSAIO

|   |  |
|---|--|
| Tipo de ensaio.....                         | crônico  |
| Temperatura de incubação.....               | 25 ± 2 °C  |
| Fotoperíodo.....                            | 12h luz/12h escuro   |
| Frasco-teste.....                           | tubos de ensaio  |
| Volume de solução-teste.....                | 10 mL  |
| Origem dos organismos.....                  | gametas obtidos de organismos coletados no campo               |
| Nº de organismos / frasco.....              | 300 ovos   |
| Nº de réplicas / solução-teste.....         | 04   |
| Nº de soluções-teste.....                   | 05 + 1 controle*   |
| Água de diluição.....                       | água do mar natural filtrada                                   |
| Água de diluição:.....                      | Salinidade: 34 ‰.....OD: 7,93 mg.L <sup>-1</sup> .....pH: 8,03 |
| Solução-estoque:.....                       | Salinidade: 30 ‰.....OD: 8,28 mg.L <sup>-1</sup> .....pH: 8,27 |
| Salinidade das soluções-teste.....          | 30 a 35 ‰  |
| pH das soluções-teste:.....                 | 7,91 a 8,27  |
| Oxigênio dissolvido das soluções-teste..... | 7,42 a 8,43 mg.L <sup>-1</sup>                                 |
| Duração do ensaio.....                      | 24 horas   |
| Resposta.....                               | retardamento no desenvolvimento embriolarval ou anomalias      |
| Expressão do resultado.....                 | CENO(I), CEO(I) e VC(I)  |
| Método de cálculo.....                      | Toxstat (Gulley <i>et al.</i> , 1991)                          |

\*Controle: exposição do organismo à água de diluição (água do mar natural) nas mesmas condições da amostra.

## 3 – RESULTADOS

Os dados brutos de contagem e o percentual de pluteus normais, obtidos no controle e nas diferentes soluções-teste, são apresentados na tabela I.

Os valores de oxigênio dissolvido (OD), pH e salinidade da água de diluição e da solução-estoque (FPS), medidos no início do ensaio, bem como os valores máximos e mínimos destes parâmetros medidos nas soluções-teste, no início e final do ensaio, encontram-se na lista de resumo das condições de ensaio.

Tabela I: Número de pluteus normais de *L. variegatus* por réplica e percentual médio de pluteus normais obtido no controle e nas diferentes soluções-teste.

| Solução-teste<br>(ppm FPS) | Pluteus Normais       |                            | Solução-teste<br>(ppm FPS ) | Pluteus Normais       |                            |
|----------------------------|-----------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------|----------------------------|
|                            | Número por<br>réplica | % por<br>solução-<br>teste |                             | Número<br>por réplica | % por<br>solução-<br>teste |
| Controle                   | 88                    | 87,5                       | 250.000                     | 83                    | 86,0                       |
|                            | 89                    |                            |                             | 87                    |                            |
|                            | 87                    |                            |                             | 90                    |                            |
|                            | 86                    |                            |                             | 84                    |                            |
| 62.500                     | 90                    | 89,0                       | 500.000*                    | 74                    | 75,0                       |
|                            | 87                    |                            |                             | 78                    |                            |
|                            | 90                    |                            |                             | 76                    |                            |
|                            | 89                    |                            |                             | 72                    |                            |
| 125.000                    | 90                    | 88,2                       | 1.000.000*                  | 0                     | 0,0                        |
|                            | 90                    |                            |                             | 0                     |                            |
|                            | 88                    |                            |                             | 0                     |                            |
|                            | 85                    |                            |                             | 0                     |                            |

\* Diferença significativa em relação ao controle.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Transform: NO TRANSFORMATION

WILLIAMS TEST (Isotonic regression model) TABLE 2 OF 2

| IDENTIFICATION | ISOTONIZED<br>MEAN | CALC.<br>WILLIAMS | SIG<br>P=.05 | TABLE<br>WILLIAMS | DEGREES OF<br>FREEDOM |
|----------------|--------------------|-------------------|--------------|-------------------|-----------------------|
| Controle       | 0.118              |                   |              |                   |                       |
| 62.500         | 0.118              | 0.465             |              | 1.75              | k= 1, v=15            |
| 125.000        | 0.118              | 0.465             |              | 1.84              | k= 2, v=15            |
| 250.000        | 0.140              | 0.930             |              | 1.87              | k= 3, v=15            |
| 500.000        | 0.250              | 7.752             | *            | 1.88              | k= 4, v=15            |

s = 0.023 Note: df used for table values are approximate when v > 20.



Laboratório de Análise Ambiental

Av. Carlos Chagas Filho, 791

Pólo Bio-Rio // Laboratório 4

Cidade Universitária // Ilha do Fundão

CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ

55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466

Email: labtox@labtox.com.br

http://www.labtox.com.br

## GARANTIA DOS RESULTADOS

Os dados apresentados neste laudo são confidenciais e referem-se unicamente aos resultados obtidos no(s) ensaio(s) com a(s) amostra(s) acima citada(s). Os dados brutos encontram-se à disposição da Empresa solicitante no Labtox.

Este laudo só pode ser reproduzido por completo. A reprodução de partes deste, só pode ser realizada com autorização escrita do Labtox.

## 4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2012. Ecotoxicologia Aquática – Toxicidade crônica – Método de Ensaio com ouriço-do-mar (*Echinodermata, Echinoidea*). NBR 15.350, 17 p.

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas. 2007. Ecotoxicologia Aquática – Preservação e preparo de amostras. NBR 15.469, 7p.

Gulley,D.D.; Boelter,A.M.; Bergman,H.L. 1991. “*TOXSTAT Realease 3.3*”, Laramie, WY University of Wyoming, 19 p.

Responsável Técnico:

MSc Leila A. Silva Kraus  
CRBio-2 - 12156/02  
Diretora



Rio de Janeiro, 10 de outubro de 2013.



Av. Carlos Chagas Filho, 791  
Pólo Bio-Rio // Laboratório 4  
Cidade Universitária // Ilha do Fundão  
CEP 21941-904 // Rio de Janeiro // RJ  
55 (21) 3867 5851 // 55 (21) 3525 2466  
Email: labtox@labtox.com.br  
<http://www.labtox.com.br>